

Aspectos da biologia reprodutiva da oliveira (*Olea europaea* L.): variedades Arbequina, Arbosana e Koroneiki em Rancho Queimado – Santa Catarina

José Henrique Melo Salvador ^(1*), Afonso Inácio Orth ⁽²⁾, Aparecido Lima da Silva ⁽³⁾

⁽¹⁾ Acadêmico do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, CEP 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil.

⁽²⁾⁽³⁾ Professor titular, Depto de Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina. Rod. Admar Gonzaga, 1346, Bairro Itacorubi, CEP 88034-001, Florianópolis, SC, Brasil. e-mail: aparecido.silva@ufsc.br; afonso.orth@ufsc.br

^(*) Autor correspondente: jhenriquesalvador@gmail.com

Resumo

O conhecimento da biologia floral da oliveira é de grande importância para desenvolver métodos e técnicas de polinização e selecionar variedades adaptadas a determinadas regiões. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a biologia flora, de três variedades de oliveira sob as condições climáticas de Rancho Queimado-SC, visando dar suporte aos trabalhos de seleção de variedades e estabelecer estratégias de manejo para a cultura. As flores foram previamente ensacadas e depois coletadas para a contagem do número de óvulos, estigmas, carpelos, anteras e grãos de pólen por flor, além da razão pólen/óvulo, receptividade do estigma com peróxido de hidrogênio, viabilidade do pólen pelo método colorimétrico e germinação *in vitro*. Para o teste de germinação *in vitro* realizou-se um ensaio preliminar afim de determinar o melhor meio de cultura para cada variedade. Os resultados observados para as três variedades mostraram padrão similar a outros trabalhos referente ao número de óvulos, estigmas, carpelos e anteras, porém o número de grãos de pólen por flor foi superior, resultando em uma elevada razão pólen/óvulo, o que caracterizou as três variedades como xenogâmicas. Os estigmas mostraram-se viáveis, assim como o pólen no teste colorimétrico. Porém resultados inferiores foram encontrados no teste de germinação *in vitro*, onde a variedade Arbosana demonstrou melhor adaptação para a região.

Palavras-chave: Biologia floral, frutificação efetiva, melhoramento genético, sistema de reprodução.

Abstract

The knowledge of the floral biology of the olive tree is of great importance to develop methods and techniques of pollination and to select varieties adapted to certain regions. The goal of this work to characterize the floral biology of three olive varieties under the Rancho Queimado climatic conditions, in order to support the work of variety selection and establish management strategies for the crop. The flowers were previously bagged and then collected to count the number of ovule, stigmas, carpels, anthers and pollen grains per flower, as well as the pollen / ovivo ratio, stigma receptivity with hydrogen peroxide, pollen viability by colorimetric method and Germination. For the *in vitro* germination test a preliminary test was carried out in order to determine the best culture medium for each variety. The observed result for the three varieties was normal for the specie referring to number of ovule, stigmas, carpels and anthers counts, but the number of pollen grains per flower was high, resulting in a high pollen/ovule ratio, which characterized the three varieties as xenogamous. The stigmas were found to be viable, as were pollen in the colorimetric test. However, low values were found in the *in vitro* germination test, where the Arbosana variety had better adaptation to the region.

Key words: Breeding system, floral biology, fruit set, genetic improvement.

Introdução

A oliveira (*Olea europaea* L.) é uma das mais antigas espécies de plantas cultivadas de que se têm registros. Pertencente à família Oleaceae é uma frutífera cujo fruto é uma drupa conhecida popularmente como azeitona. É originária da região que vai desde o sul do Cáucaso até as planícies do Irã, estendendo-se por todos os países as margens do mediterrâneo (CIVANTOS, 1988). Pelo fato dos registros coincidirem com a expansão das antigas civilizações mediterrâneas, acredita-se que a domesticação da oliveira pode ter ocorrido a cerca de 4.500 anos atrás (TERRAL, 2004). Com o descobrimento de novos territórios a oliveira estendeu-se pelo novo mundo e, na atualidade, é cultivada em mais de 40 países distribuídos em quase todos os continentes (INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL, 2015), com uma área de cultivo aproximada de 10,6 milhões de hectares (CONSEJO OLEÍCOLA INTERNATIONAL – COI, 2015).

Na América do Sul, os principais países produtores e exportadores de azeitona e azeite são a Argentina, com aproximadamente 100 mil hectares cultivados, e o Chile, com 10 mil (SILVA *et al.*, 2012a). No Brasil a atividade ainda é recente, tendo registros do cultivo nos Estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, porém ainda pouco expressiva, não suportando a demanda nacional de azeitonas e seus subprodutos. Entretanto, conforme dados do International Trade Map, em 2016 a produção nacional mostra um crescimento médio de 20% ao ano.

No Ano de 2015 o Brasil importou 113.452 toneladas de azeitonas e azeite de oliva, correspondendo a U\$ 549.341,00, (com uma queda de 22% do mesmo período de 2014), sendo Portugal, Espanha e Argentina os principais exportadores respectivamente (INTERNATIONAL TRADE MAP, 2016). Com base nessas informações, se desperta o interesse do cultivo no país, porém para suprir a demanda nacional de tais produtos faz-se necessário o plantio de 11 milhões de mudas, gerando um custo aproximado de U\$ 636 milhões (VIEIRA NETO *et al.*, 2011).

Embora a olivicultura seja economicamente vantajosa para o país, ainda apresenta dificuldades como a falta de investimento, conhecimento científico e suporte técnico (TERAMOTO *et al.*, 2010), além da baixa adaptação climática das variedades introduzidas (SILVA *et al.*, 2012a). Sendo assim, são necessários investimentos que estimulem a pesquisa e o conhecimento, entre estes, trabalhos com melhoramento genético visando desenvolver e selecionar indivíduos melhores adaptados às condições climáticas encontradas no país, e dessa forma obter uma produtividade viável de frutos.

Para aprimorar o cultivo de oliveiras é necessário selecionar as melhores variedades para cada região, tendo em vista que o Brasil é um país de extensão continental, possuindo grande diversidade climática (FARIA, 2015). Em Santa Catarina, desde o ano de 2005, pesquisas vem sendo realizadas através da Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), com o objetivo de encontrar variedades mais adaptadas às condições locais, para que possam ser utilizadas pelos pequenos agricultores (DA CROCE, 2009). Em experimento preliminar com as mesmas variedades em 18 locais, 8 mostraram-se aptos para o cultivo, todos situados no oeste do Estado (BERTONCINI; TERAMOTO; PRELA-PANTANO, 2010).

O conhecimento da biologia floral, da fenologia, do sistema de cruzamento e polinização de uma espécie, possui grande importância para compreender a sua biologia reprodutiva (MAUÉS e COUTURIER, 2002; RAMÍREZ, 2002), ainda assim, as pesquisas

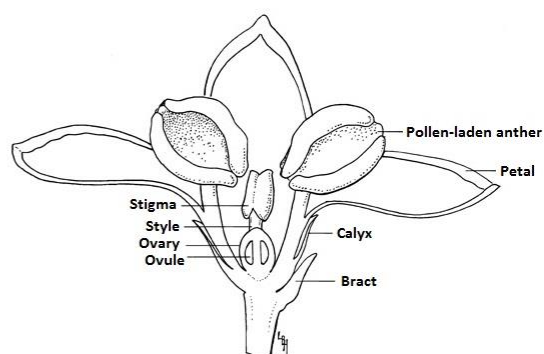
com oliveiras no país são recentes, sendo escassos os trabalhos a respeito da caracterização reprodutiva.

A floração na região ocorre nos meses de setembro e outubro onde são produzidas inflorescências paniculares, com flores isoladas ou ramos com grupos de até cinco flores. Podem ser do tipo perfeitas (hermafroditas) ou estaminadas (masculinas/ imperfeitas). As flores perfeitas possuem estruturas reprodutivas feminina e masculina bem desenvolvidas (estames e pistilos), duas sépalas, quatro pétalas (tom amarelo-branco ou branco-esverdeado), um pistilo com ovário súpero bicarpelar e sincárpico e dois estames que produzem pólen abundantemente, porém muito pouco néctar, se produzir (**Figura 1**). Já as flores estaminadas possuem ovário rudimentar ou até mesmo ausente, possivelmente oriundas de uma falha no desenvolvimento, não produzindo frutos. A proporção de flores estaminíferas ou porcentagem de aborto ovárico pode ultrapassar 50% em anos normais (BACELAR *et al.*, 2009; MCGREGOR, 1976; RAPOPORT, 2004).

Figura 1: Esquerda: inflorescências e flores de oliveira (*Olea europaea* L.). Direita: representação esquemática da flor de oliveira.



Fonte: Plants & Flowers.



Fonte: UCDAVIS, University of California.

Na cultura da oliveira, a polinização pode ocorrer por autopolinização ou por polinização cruzada, sendo que embora uma variedade seja considerada autofértil, a produção pode ser mais significativa quando ocorre a polinização cruzada, conforme observaram Grijalva-Contreras *et al.* (2015). Portanto, apesar de ser considerada uma espécie com sistema reprodutivo predominantemente autógamo, o comportamento pode divergir dependendo da variedade utilizada e das condições edafoclimáticas do local de

cultivo, onde podem apresentar autoincompatibilidade (COUTINHO, RIBEIRO & CAPPELLARO, 2009).

Considerando as exigências para a olivicultura em Santa Catarina, se faz necessário o conhecimento das particularidades ambientais locais e do banco de germoplasma disponível. Além disso, é importante ter clareza das características fisiológicas e florais para compreensão do comportamento reprodutivo das variedades e a seleção de progenitores com viabilidade reprodutiva (COUTINHO *et al.*, 2009).

Portanto, este trabalho tem como objetivo estudar a biologia reprodutiva da oliveira, visando estabelecer estratégias de manejo para a cultura, e dar suporte aos trabalhos de melhoramento genético voltado para a seleção de variedades mais adaptadas às condições climáticas da região de Rancho Queimado – SC. Além de buscar novos conhecimentos que possam aumentar a produtividades das variedades já cultivadas.

Material e métodos

O estudo foi realizado em uma área de oliveira implantada no ano de 2010 em Rancho Queimado/SC a 62 km da capital de Santa Catarina. Área localizada na propriedade Terramília, a 1000 metros acima do nível do mar, coordenadas 27°42'18.26" S e 49°03'0303" W. Pertencendo a região da Grande Florianópolis, o clima do município é classificado como cfb com temperatura média de 16,2°C, segundo classificação de Koppen-Geiger, possuindo altitude média de 810 m (RANCHO QUEIMADO, 2015). O solo classifica-se como Podzólico (EMBRAPA, 2004) e apresenta classe textural dois.

Para realização das análises, previamente definidas, utilizou-se 40 flores por planta. No dia 15 de outubro de 2015 foram selecionadas aleatoriamente cinco plantas por variedade (Arbequina, Arbosana e Koroneiki), que tiverem suas inflorescências em estágio de pré-antese ensacadas com tecido voil. Nos dias 20 e 21 de outubro de 2015 foi então coletado o material e encaminhado ao laboratório para execução das análises.

Para caracterização da morfologia floral da oliveira foi determinado o número de estigmas, carpelos, óvulos e anteras. Foram coletadas 75 flores em estágio de pré-antese por variedade sendo 15 flores de cinco plantas. As estruturas foram observadas e contadas em estereoscópio. Para a contagem do número de carpelos e óvulos foi realizado um corte transversal do ovário.

Na determinação do número de grãos de pólen, foram tomados cinco botões florais de cinco plantas de cada variedade (SILVA, 2014). Posteriormente foram retiradas as

anteras de cada flor e armazenadas separadamente em tubos de Eppendorf destampados e mantidos em temperatura de 27°C por 24 horas. Após esse período, foi feita a diluição das anteras em uma solução de 1250 µL de ácido láctico a 85%, depois de 48 horas foi tomada uma amostra de 10 µL de cada tubo, as quais foram depositadas nas câmaras de um hemacitômetro tipo Neubauer e observadas sob microscópio óptico em objetiva de 10x para a contagem do número de grãos de pólen (SILVA, 2014). A contagem foi realizada nos campos A do hemacitômetro (MAÊDA, 1985), a qual se multiplica a média do número de pólenes contados nos quatro campos por $1,0 \times 10^4$ para obtenção da proporção por mL. Para estimar o número de grãos de pólen por antera foi calculada a proporção para o volume de 1250 µL ($\times 1,25$) e dividido o valor pelo número das mesmas diluídas na solução. O resultado foi multiplicado pelo número médio de anteras por flor, encontrando assim o número médio de grãos de pólen por flor. A partir deste foi obtida a razão pólen/óvulo.

Para a realização do teste de receptividade do estigma, foi empregado a técnica proposta por Galen e Plowright (1987), citado por Sezerino (2014), em que se relaciona a atividade da enzima peroxidase no estigma com o aumento da adesão e germinação dos grãos de pólen. A detecção da enzima foi realizada com o auxílio de um esteroscópio, observando a reação efervescente do peróxido de hidrogênio (H_2O_2 - 20 volumes) quando em contato com o estigma. Foram analisadas 15 flores de cinco plantas por variedade, atuando cada indivíduo como uma repetição, por fim definida a porcentagem do número de estigmas viáveis.

O teste da viabilidade dos grãos de pólen foi realizado com 50 flores por variedade sendo 10 flores por planta, onde apenas os cultivares Arbequina e Arbosana foram utilizados. Foram retiradas as anteras e depositadas em placas de Petri limpas, mantidas meio-abertas em estufa a temperatura de 27°C, durante 12 horas, no escuro, para a liberação dos grãos de pólen (SILVA, 2014). Após a liberação, estes grãos foram submetidos ao teste colorimétrico e de germinação *in vitro*.

Para o teste colorimétrico foi utilizado o corante Carmin Acético, sabendo que o mesmo reflete a atividade enzimática da desidrogenase durante o processo respiratório dos tecidos, esse tipo de atividade enzimática no grão de pólen esta relacionada com a sua capacidade germinativa (HUGANG *et al.*, 2014). Com o auxílio de pincéis, o pólen foi depositados sobre lâminas microscópicas sendo três lâminas para cada variedade (três repetições). Posteriormente, utilizando um conta-gotas o corante foi pingado na região onde encontravam-se os pólenes na lâmina e ajustada uma lamínula sobre o material. A

contagem foi realizada em microscópio óptico (Olympus SZH10) em objetiva de 10x, tomados cinco campos de visão por placa, onde em cada um deles foram contados 100 grãos de pólen. Foram considerados viáveis aqueles que apresentaram coloração rosada e por fim calculada a porcentagem média destes.

Devido à baixa germinação dos grãos de pólen de oliveira (menor que 5%) nos meios de cultura encontrados na literatura, para o teste de germinação *in vitro*, realizou-se um ensaio preliminar com diferentes concentrações dos solutos para aprimorar a metodologia do presente trabalho. Sendo assim, o ensaio constituiu de 12 meios de cultura (tratamentos) por variedades, com uma repetição e cinco subamostras (campos de visão) em cada meio, por tratar-se apenas de algo informativo. Os tratamentos foram constituídos de 40 mg.L⁻¹ de ácido bórico para as concentrações de 10, 20 e 40% de sacarose, com pH ajustado para 6,5 e 5,8 em cada caso. O mesmo repetiu-se com 80 mg.L⁻¹ de ácido bórico, todos com 10 g.L⁻¹ de ágar. Os meios de cultura foram então vertidos (15 ml por placa de Petri) em câmara de fluxo e após a solidificação com o auxílio de um pincel os grãos de pólen foram “semeados” sobre o meio. As placas foram tampadas e levadas para incubação em BOD a 25°C.

A contagem de grãos de pólen germinados foi realizada em microscópio óptico (Olympus Bx 40), em objetiva de 10x, tomando cinco campos de visão ao acaso por placa, onde em cada um deles foram registrados o número de grãos de pólen germinados e não germinados num contador manual, até atingir 100 grãos. A contagem foi realizada nos tempos de 12, 24, 36 e 60 horas onde no ultimo se percebeu a estabilização da curva germinativa e o surgimento de colônias de fungos. Foram considerados viáveis aqueles que emitiram tubo polínico com comprimento igual ou superior ao seu próprio diâmetro (DANTAS *et al.*, 2005) e avaliado a porcentagem média de grãos germinados em cada contagem. Com o auxílio do programa Past, os resultados obtidos foram submetidos ao teste de separação de médias Tukey (5%) e quando não apresentaram-se dentro de uma distribuição normal, foram submetidos ao teste Kruskal-wallis (5%).

Portanto, no teste da germinação *in vitro*, realizou-se os mesmos procedimentos de preparação e análise, porém foram realizadas quatro placas com o meio de cultura de melhor desempenho por variedade, sendo cada placa uma repetição.

Os resultados obtidos nas avaliações foram comparados em valores absolutos e em porcentagem, e quando significativo realizou-se testes de separação de média Tukey e Kruskal-Wallis (5%).

Resultados e discussão

As três variedades analisadas apresentaram valor padrão para a espécie nos parâmetros de número de estigmas (1,0) e número de carpelos (2,0) e antera (2,0) por flor, conforme mostra a **Tabela 1**.

Tabela 1: Caracterização morfológica de flores de oliveira (*Olea europaea* L.), variedades Arbequina, Arbosana e Koroneiki. Rancho Queimado – SC, 2015.

Parâmetro analisado	Valor (unidade)		
	Arbequina	Arbosana	Koroneiki
Número de óvulos/flor	3,82	3,93	3,57
Número de estigmas/flor	1,00	1,00	1,00
Número de carpelos/flor	2,00	2,00	2,00
Número de anteras/flor	2,00	2,00	2,00
Número de grãos de pólen/antera	50.390,62	47.890,63	60.540,97
Número de grãos de pólen/flor	100.781,24	95.781,25	121.081,94
Razão pólen/óvulo	26.382,52	24.371,82	33.916,28

A variedade Koroneiki revelou menor valor de número de óvulos por flor (3,57), quando comparado com a Arbequina (3,82) e Arbosana (3,93). Porém, considerando o elevado valor encontrado da razão pólen/óvulo, o número de óvulos (< 4) encontrado não se apresenta como fator limitante para produção. O número de grãos de pólen por flor calculado para as três variedades mostrou-se elevado, 91.577,07, 89.004,17 e 114.881,94 maior para Arbequina, Arbosana e Koroneiki, respectivamente, quando comparado com os dados encontrados por Silva (2014), os quais estão próximos aos obtidos por Ferreira *et al* (2013) para a variedade Arbequina (9.043,75). Portanto, devido ao menor número médio de óvulos e maior número de grãos de pólen por flor, a variedade Koroneiki pode ser recomendada como polinizadora.

O ano de 2015 na região de Rancho Queimado - SC, de janeiro a novembro, apresentou uma taxa pluviométrica de 2.366,03 mm, sendo que o acúmulo médio anual para o município segundo Climate-Data é 1.675 mm. Em especial a precipitação dos meses de setembro (369,4) e outubro (409,71) foi acima da média (215), sendo que as plantas apresentam-se em estágio floração nos meses correspondentes. Desta forma, o excesso de umidade na época de formação floral pode justificar o elevado número de grãos de pólen encontrado e alta porcentagem de aborto floral ocorrida em tal safra.

De acordo com a **Tabela 1**, a razão pólen/óvulo calculada para Arbequina foi 26.382,52, Arbosana 24.371,82 e Koroneiki 33.916,28. Conforme classificação proposta por Cruden (1977), dependendo desta razão, as plantas podem ser classificadas como

cleistogâmicas, obrigatoriamente autogâmicas, facultativamente autogâmicas, facultativamente xenogâmicas ou xenogâmicas (**Tabela 2**).

Tabela 2. Classificação dos sistemas reprodutivos preferenciais de acordo com a razão pólen óvulo.

Sistema reprodutivo preferencial	Pólen/óvulo
Cleistogâmia	$4,7 \pm 0,7$
Autogamia obrigatoria	$27,7 \pm 3,1$
Autogamia facultativa	$168,5 \pm 22,1$
Xenogâmica facultativa	$796,6 \pm 87,7$
Xenogamia	$5.859,2 \pm 936,5$

Fonte: Cruden (1977).

Portanto, segundo a classificação proposta por Cruden (1977), as três variedades avaliadas são classificadas como xenogâmicas, com o valor da razão pólen/óvulo superior a 5.859,2, ou seja, seu sistema reprodutivo é dependente de polinização cruzada, apresentando dicogamia ou autoincompatibilidade.

A razão pólen/óvulo reflete a probabilidade de uma determinada quantidade de grãos de pólen chegar no estigma e resultar em máxima produção de sementes. Portanto, de modo geral, quanto maior a razão pólen óvulo mais fortes são as barreiras para a autopolinização, sendo maior a dependência de vetores de pólen para promover a polinização cruzada (CRUDEN, 1977).

Para Cordeiro *et al*, (2011), em estudo de caracterização de vingamento de azeitonas com diferentes variedades em Portugal, a autoincompatibilidade está fortemente relacionada com a variedade (componente genético) e condições climáticas (componente ambiental), com um claro predomínio da segunda componente.

Na **Tabela 3** estão representadas as porcentagens germinativas dos grãos de pólen no ensaio de meio de cultura para realização do teste de viabilidade *in vitro*. Como se pode observar, para a variedade Arbequina o meio de cultura composto de 40 mg.L⁻¹ de ácido bórico, 10% de sacarose, e pH 6,5 (tratamento 02) apresentou maior porcentagem de germinação (14,8%) quando comparado aos outros tratamentos, não diferindo do tratamento 01 com pH 5,8. Para a variedade Arbosana, 40 mg.L⁻¹ de ácido bórico, 10% de sacarose, e pH 5,8 foi o tratamento (01) que conferiu resultado superior de germinação dos grãos de pólen (27,2%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Silva (2014)

concluiu que para a cultura da oliveira o meio de cultura ideal deve ser composto de 400 mg.L⁻¹ de ácido bórico, 9% de sacarose e pH ajustado para 5,79. Porém, a capacidade germinativa deste material pode estar associada à qualidade do mesmo desde as condições edafoclimáticas e sanitárias de formação na planta, até as condições de coleta e armazenamento do material, acarretando em diferentes resultados. Desta forma, é difícil a determinação de um meio ideal para cada variedade tendo em vista a especificidade de cada caso.

Tabela 3: Porcentagem de germinação média de grãos de pólen de oliveira variedade Arbequina e Arbosana em meios de cultura com diferentes concentrações de solutos e pH. Laboratório de fisiologia do desenvolvimento e genética vegetal, UFSC, outubro de 2015.

	Ác. Bórico (mg.L ⁻¹)	Sacarose (%)	pH	Germ. de gr. de pólen (%) Arbequina	Germ. de gr. de pólen (%) Arbosana
T1	40	10	5,8	9,4 ab	27,2 a
T2			6,5	14,8 a	14,4 b
T3		20	5,8	8,0 c	12,2 b
T4			6,5	9,2 c	7,6 d
T5		40	5,8	8,0 c	8,0 cd
T6			6,5	9,0 c	5,0 ef
T7	80	10	5,8	7,2 c	3,8 f
T8			6,5	7,4 c	2,2 g
T9		20	5,8	6,4 c	3,4 f
T10			6,5	6,0 c	3,4 f
T11		40	5,8	5,6 c	2,0 g
T12			6,5	6,0 c	2,2 g

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%), cv = 19,32% para Arbequina. As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Kruskal-wallis a 5% (análise não paramétrica devido aos dados não apresentarem uma distribuição Gaussiana). cv = 36,08% para Arbosana.

A presença do ácido bórico no meio de cultura pode apresentar diferentes resultados de germinação do pólen dependendo da espécie, por tratar-se de um soluto com função bastante específica na formação do tubo polínico. Além disso, o micronutriente boro é capaz de interagir com as moléculas de sacarose, aumentando a eficiência da absorção desta molécula, favorecendo o desenvolvimento do tubo polínico (DANTAS *et al.*, 2015).

Para Silva (2014) a presença de 400 mg.L⁻¹ de ácido bórico no meio favorece a germinação de pólenes de oliveira quando comparado a sua ausência, entretanto relata que em concentrações mais elevadas ocorre a diminuição da porcentagem de germinação, provavelmente relacionado ao rompimento das estruturas celulares do grão de pólen

devido à alta concentração de tal soluto. Em contrapartida, Cappellaro (2010) não encontrou diferenças significativas na germinação de grãos de pólen de oliveira das variedades Arbequina e Koroneiki ao testar concentrações de ácido bórico entre 25 e 125 mg.L⁻¹.

No teste aplicado, ambas as variedades apresentaram melhor germinação nos meios de cultura cuja concentração de ácido bórico foi menor (40 mg.L⁻¹), reforçando o resultado exposto por Silva (2014), onde a presença de tal soluto favorece o desenvolvimento do tubo polínico, porém em menores concentrações. Contudo maiores estudos são necessários para quantificar a quantidade ideal, tanto nas condições de meio de cultura, quanto em condições de aplicação no campo durante a floração, tendo em vista os aspectos positivos deste.

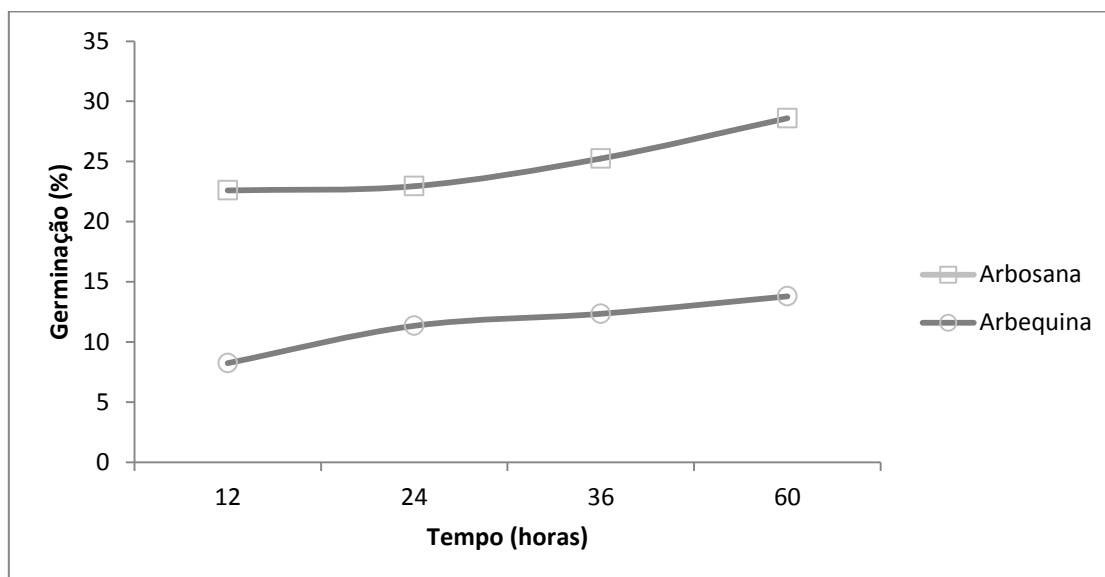
A sacarose tem como principal função o fornecimento de energia para os processos biossintéticos da germinação do grão de pólen (STANLEY & LINSKENS, 1974). Barbosa *et al.* (1991) observaram com pólenes de pessegueiros e nectarineiras, os melhores resultados em meios com baixa concentração de sacarose. Já Chagas *et al.* (2009) trabalhando com *Prunus persica* (L.), obtiveram maiores taxas de germinação dos grãos de pólen nos tratamentos com maior concentração do açúcar, firmando a especificidade da concentração deste nos testes *in vitro*. Tratando-se da oliveira, Silva (2014) verificou que os melhores efeitos foram também alcançados com as maiores concentrações de sacarose, divergindo do resultado encontrado no presente trabalho, onde a maior taxa de germinação foi encontrada na menor concentração para ambas as variedades. A presença do soluto em taxa menor pode ter favorecido a germinação dos grãos de pólen devido ao melhor equilíbrio osmótico proporcionado.

O ajuste do pH para 6,5 proporcionou maior taxa de germinação para a variedade Arbequina, e 5,8 para a Arbosana. O pH pode estar também relacionado ao equilíbrio osmótico do meio, ou ainda com a maior ou menor disponibilidade dos outros constituintes. A definição do pH é importante, pois está intimamente relacionado com a capacidade germinativa do pólen e consequentemente maiores probabilidades de fertilização e índices de produção no campo.

A **Figura 2** apresenta a taxa de germinação dos grãos de pólen nos meios de cultura de melhor desempenho, tratamentos 01 e 02 (Tabela 3), para as duas variedades analisadas em função do tempo. Foi possível observar a emissão do tubo polínico na maioria dos grãos de pólen que germinaram já no tempo de 12 horas, porém o valor foi

crescente, em taxa menor, até o tempo de 60 horas, onde a curva mostrou-se estabilizada e as avaliações tornaram-se difíceis devido ao surgimento de colônias de fungos.

Figura 2: Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen de oliveira variedades Arbequina e Arbosana em diferentes tempos de incubação. Laboratório de fisiologia do desenvolvimento e genética vegetal, UFSC, outubro de 2015.



Conforme mostra a **Figura 1** a variedade Arbosana apresentou uma breve estabilização entre os tempos de 12 e 24h, porém retomou uma pequena taxa de germinação até o tempo de 60h, atingindo 28,6 %. Comportamento este diferente do observado na variedade Arbequina, onde apresentou crescimento até o tempo de 24h, e a partir deste crescendo lentamente a taxa de germinação até o tempo de 60h, atingindo 13,8 %. Embora o ponto máximo da curva para as duas variedades tenha sido o tempo de 60h, o incremento proporcionado à taxa de germinação foi baixo, não justificando a permanência dos grãos de pólen no meio pela possibilidade de contaminação e desequilíbrio deste. Porém, demonstra que em situações de campo, alguns grãos de pólen ainda encontram-se aptos a germinar mesmo passado algum tempo, podendo acarretar em características determinantes para evolução e adaptação de espécies. Silva (2014), com pólen da variedade Arbequina, obteve maior taxa de crescimento da curva de germinação, com progresso até o tempo de 95 horas, atingindo 73,65% de germinação.

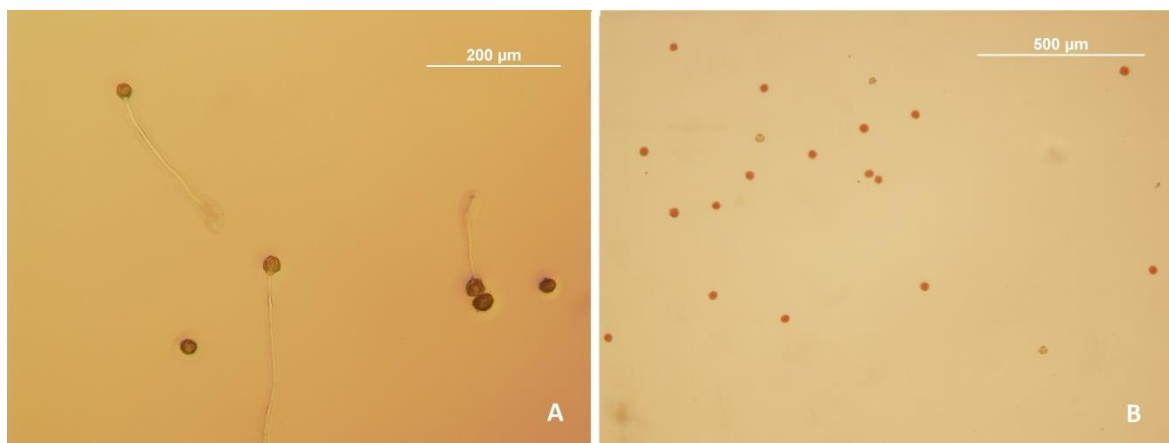
O teste da viabilidade do pólen resultou em um panorama da capacidade germinativa mostrando diferenças entre as variedades (**Tabela 4**). A variedade Arbosana mostrou maior porcentagem de germinação dos grãos de pólen em ambos os testes de

viabilidade (colorimétrico – 91,87% e *in vitro* – 28,60%) (**Figura 3**). Indicando preliminarmente que esta variedade de resultado superior pode apresentar melhor desempenho reprodutivo e consequentemente produtivo na região analisada.

Tabela 4: Receptividade do estigma de flores de oliveira das variedades Arbequina, Arbosana e Koroneiki. Viabilidade do pólen das variedades Arbequina e Arbosana. Rancho Queimado – SC, 2015.

Parâmetro analisado	Valor (%)		
	Arbequina	Arbosana	Koroneiki
Receptividade do estigma	100	100	98,33
Viabilidade do pólen – teste colorimétrico	81,20	91,87	-
Viabilidade do pólen – Germinação <i>in vitro</i>	13,80	28,60	-

Figura 3: Imagens de viabilidade de grãos de pólen da variedade Arbosana. A: método da germinação *in vitro*. B: método colorimétrico.



Fonte: Arquivo pessoal.

No teste colorimétrico ambas as variedades apresentaram alta porcentagem de grãos de pólen viáveis (Arbequina 81,20% e Arbosana 91,87%), diferente dos observados no teste de germinação *in vitro*. Para muitos autores, os testes com corantes pode superestimar os valores de viabilidade, visto que esse reagente apenas reflete a integridade de algumas estruturas celulares, não sendo um indicador direto da viabilidade dos grãos de pólen (PLINE *et al.*, 2002). Já os testes de germinação *in vitro* podem subestimar os resultados de viabilidade, pois apesar dos grãos de pólen apresentarem boa germinação podem não produzir elongação suficiente do tubo polínico para fertilizar o óvulo (STANLEY & LINSKENS, 1974; GALETTA, 1983).

Os resultados dos testes de germinação *in vitro* são muito variáveis e dependem da composição do meio utilizado (metodologia do trabalho), bem como da variedade em estudo, das condições de conservação do pólen, da localização e das condições edafoclimáticas que condicionam o estado de maturação do pólen (Alarcón *et al.*, 2004). Silva (2014) avaliando oliveiras no Estado de Minas Gerais – MG, obteve resultados superiores de germinação *in vitro*, 48,47 % (Arbosana) e 73,65 % (Arbequina). Cappellaro (2010), encontrou 37,20% de germinação *in vitro* em grãos de pólen da variedade Arbequina no Rio Grande do Sul, já Cabral (2009) em estudo com a mesma variedade em Portugal, obteve 3,00%. Fernandez-Escobar *et al.* (1981) em estudo com grãos de pólen de 33 variedades de oliveira proveniente de diferentes lugares da Europa, encontraram resultados que variaram entre 21,8 e 0,89 %, considerando esses valores baixos quando comparados com trabalhos de outras espécies. Essa distinção dos resultados observados por Silva (2014), Cappellaro (2010), Cabral (2009), Fernandez-Escobar *et al.* (1981) e no presente trabalho podem firmar os efeitos das condições edafoclimáticas, características varietais e de cultivo serem determinantes para a caracterização reprodutiva da espécie.

Portanto, apesar da baixa porcentagem da germinação dos grãos de pólen *in vitro*, os resultados podem ser muito variáveis dentro da espécie estudada, corroborando ainda assim com o encontrado por outros autores.

Com relação a receptividade do estigma, as variedades Arbequina e Arbosana apresentaram valores de 100% dos estigmas analisados viáveis, superior a Koroneiki (98,33%), porém, valor não discrepante e similares. Portanto pode-se considerar que os estigmas das variedades analisadas encontram-se em condições aptas para recepção do pólen e desenvolvimento do tubo polínico.

Sendo assim, apesar do elevado número de pólenes e consequentemente elevada razão pólen/óvulo, a produção da safra de 2015 foi baixa, a ponto de não ser viável a colheita dos frutos. Isso pode ser explicado pela baixa viabilidade encontrada na germinação *in vitro* dos grãos de pólen e das condições climáticas adversas ocorridas no ano, principalmente, pelo excesso de chuva na primavera/verão.

Conclusão

Nas condições edafoclimáticas de Rancho Queimado – SC as três variedades de oliveira (Arbequina, Arbosana e Koroneiki) apresentaram aspectos reprodutivos em padrão similar a outros trabalhos, com exceção do elevado número de grãos de pólen por flor.

É difícil afirmar a taxa de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de oliveira, pois os resultados são variáveis e dependem das condições edafoclimáticas e sanitárias de cultivo da planta em que se coleta o material assim como da metodologia do trabalho.

As três variedades foram caracterizadas como xenogâmicas devido a alta razão pólen/óvulo.

A variedade Koroneiki apresentou maior número de grãos de pólen e menor número de óvulos por flor, caracterizando-se como boa polinizadora.

A variedade Arbosana foi superior quanto aos aspectos, o que pode indicar aptidão ao cultivo e seleção de progenitores para a região.

Referências

ALARCON, M. V.; CALADO, M. L.; CORDEIRO, A. I.; SALGUEIRO, J. Variabilidade da germinação do pólen da variedade de oliveira Galega Vulgar. **Melhoramento**, v. 39, 122-127, 2004.

BARBOSA, W. *et al.* Conservação e germinação do pólen, polinização e frutificação efetiva em pessegueiros e nectarineiras subtropicais. **Bragantia**, Campinas, v. 50, n. 1, p. 17-28, 1991.

BACELAR, E. *et al.* Botânica e Morfologia da Oliveira. **In:** RODRIGUES, M. Â. R.; CORREIA, C. M. Manual da safra e contra safra do olival. Bragança: Instituto Politécnico de Bragança, cap. 1, p. 9-15, 2009.

BERTONCINI, E. I.; TERAMOTO, J. R. S.; PRELA-PANTANO, A. **Desafios para produção de azeite no Brasil**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_4/DesafioOliva/index.htm>. Acesso em: 01/11/2016.

CABRAL, E. F. **Estudos preliminares de polinização em oliveira (*Olea europea* L.) cv. Galega vulgar**. 2009. Dissertação (mestrado em engenharia agronômica) – Instituto Superior de Agronomia – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa 2009.

CAPPELLARO, T. H. **Bloom period and pollen viability on the olive cultivars Arbequina and Koroneiki**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

CHAGAS, E. A. *et al.* Germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Prunus pérsica* (L.) *Batsch Vulgaris*. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 25, n. 5, p. 8-14, 2009.

CIVANTOS, L. La olivicultura en el mundo y em España. **In:** BARRANCO, D.;

FERNÁNDEZ, R. E.; RALLO, L. El cultivo del olivo. 2 ed. rev. Y amp. Sevilla: Consejería de Agricultura y pesca de la junta de Andalucía/Madrid: Mundi-Prensa, 1998.

CLIMATE-DATA. **Clima: Rancho Queimado**. Climate-data.org 2016. Disponível em: <<http://pt.climate-data.org/location/313371/>>. Acesso em 02 novembro 2016.

CONSEJO OLEÍCOLA INTERNATIONAL – COI. **Cifras aceite de oliva**. 2016. Disponível em: <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/131-world-olive-oil-figures>>. Acesso em: 29 outubro 2016.

CORDEIRO, A. M. *et al.* Caracterização do vingamento da azeitona em cultivares de oliveira em autopolinização. **In** Simpósio Nacional de Olivicultura, 5, Santarém, 2009 - Actas Portuguesas de Horticultura. N.º 14, p. 23-30. 2011

COUTINHO, E. F.; RIBEIRO, F. C.; CAPPELLARO, T. H. (Ed.). **Cultivo de Oliveira (*Olea europaea* L.)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 125p. 2009. (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de produção, 16).

CRUDEN, R. W. Pollen-ovule ratio: a conservative indicator of breeding system in flowering plants. **Evolution**, v. 31, 1977.

DA CROCE, D. M. Cultura da Oliveira para o Estado de Santa Catarina. **Sul Brasil Rural**. Ed.22. Chapecó, 2009.

DANTAS, A. C de M. *et al.* Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus spp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 356-359, 2005.

FARIA, M. V. C. Dinâmica climática. Educação: geografia. Globo.com. 2015. Disponível em: <<http://educacao.globo.com/geografia/assunto/geografia-fisica/dinamica-climatica-e-vegetacao-no-brasil.html>>. Acesso em: 30 outubro 2016.

FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; GOMEZ-VALLEDOR, G.; RALLO, L. Germinación *in vitro* del pólen de cultivares de olivo. **Anales de la Estacion Experimental de Aula Dei**, 15 (3-4): 261-272, 1981.

FERREIRA, R. F.; OLIVEIRA, A. F.; SILVA, L. F. O.; ZAMBON, C. R. Germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares de oliveira. **Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica**, 10, Belo Horizonte, 2013.

GALEN, C.; PLOWRIGHT, R. C. Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptive. Canadian Journal of Botany, v.65, p.11-107, 1987. **In:** SEZERINO, A. A. A polinização da pereira europeia (*Pyrus communis* L. cv. Rocha) no Sul do Brasil. 2014. 175 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Catarina,

Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, SC. 2014.

GALETTA, G. J. Pollen and Seed Management. **In:** MOORE, J.N.; JANIK, J. (Ed.). Methods in fruit breeding. Indiana: Purdue University Press, p.23-47, 1983.

GRIJALVA-CONTRERAS L. R. *et al.* Supplemental pollination with different sources of pollen in olive (*Olea europaea*) ‘Manzanilla’ under hot and arid environment. **Annual Research & Review in Biology**. p. 363-369, 2015.

HUGANG, Z. *et al.* Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 93, n. 3, p. 295-300, 2004.

INTERNATIONAL TRADE MAP. **List of products imported by Brazil:** deleted products in the following category: code 150910. Olive oil virgen. 2015. Disponível em: <http://www.trademap.org/Country_SelProductCountry.aspx?nvpm=1|076|||1509||4|1|1|1|1|2|1|1>. Acesso em: 29 outubro 2016.

MCGREGOR, S. E. Chapter 5: Tree Fruits & Nuts and Exotic Tree Fruits & Nuts: OLIVE. **In:** MCGREGOR, S. E. Insect Pollination Of Cultivated Crop Plants. Tucson: United States Department Of Agriculture, p. 400-403, 1976.

MAÊDA, J. M. Manual para uso da câmara de Neubauer para contagem de pólen em espécies florais. **Universidade Federal do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro. 1985.

MAUÉS, M. M.; COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do Camu-Camu (*Myrciaria dubia* (HBK) (McVaugh, Myrtaceae) no Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 4, p. 441-448, 2002.

PLINE, W. A. *et al.* Use of digital image analysis, viability stains and germination assays to estimate conventional and glyphosate-resistant cotton pollen viability. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 2193-2200, 2002.

RAMÍREZ, N. Reproductive phenology, life-forms, and habitats of the Venezuelan Central Plain. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 5, p. 836-842, 2002.

RANCHO QUEIMADO. Prefeitura Municipal. Rancho Queimado: A Capital Catarinense do Morango – Características. 2016. Disponível em: <<http://www.rq.sc.gov.br/historia>> Acesso em: 02 novembro 2016.

RAPOPORT, H. F. Botánica y morfología. **In:** BARRANCO, D.; FERNÁNDEZ-ESCOBAR, R.; RALLO, L. El cultivo del olivo 5. ed. rev. y amp. Madrid: Mundi-Prensa, p. 37-62, 2004.

SEZERINO, A. A. **A polinização da pereira européia (*Pyrus communis* L. cv. Rocha) no Sul do Brasil**. 2014. 175 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa

Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Florianópolis, SC. 2014.

SILVA, L. F. O. *et al.* Variação na qualidade do azeite em cultivares de oliveira. **Bragantina**, Campinas, v. 71, n. 2, p. 202-209, 2012a.

SILVA, L. F. O. **Meio de cultura para germinação de grãos de pólen e paclobutrazol em cultivares de oliveira.** 2014. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, MG. 2014.

SOLOS do Estado de Santa Catarina. Embrapa Solos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; n. 46.** Rio de Janeiro, p. 418, 2004.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. Pollen: biology, biochemistry and management. **New York: Springer** –Verlag, p. 172, 1974.

TERAMOTO, J. R. S.; BERTONCINI, E. I.; PRELA-PANTANO, A. Histórico da introdução da cultura da oliveira no Brasil. **Expo azeite.** Instituto Agronômico de Campinas. São Paulo. 2010.

TERRAL, J. F. *et al.* Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. **Journal of Biogeography**, v. 31, n. 1, p. 63-77, 2004.

VIEIRA NETO, J.; SILVA, L. F. O.; DAL'COL, A. L.; OLIVEIRA, A. F.; OLIVEIRA, M. C.; Formulações comerciais de fertilizantes foliares na finalização de mudas de variedades de oliveira. **Ciência Agrônômica**, v. 1, n. 42, p. 125-131, 2011.